Product sheet

WI 38 VA13-alatyyppi 2RA Solut | 300421

Yleisiä tietoja

Description	WI-38 VA13 -alilinja 2RA, joka on johdettu historiallisesta WI-38-solulinjasta, joka on alun perin peräisin 3 kuukauden ikäisen sikiön keuhkokudoksesta, on merkittävä edistysaskel soluviljelyteknologiassa. Alkuperäinen WI-38-solulinja oli ratkaisevan tärkeä kehitettäessä rokotteita lukuisia virussairauksia, kuten tuhkarokkoa, sikotautia, vihurirokkoa ja hepatiitti A:ta vastaan. VA13-alalinja 2RA on tämän solulinjan kuolematon muunnos, joka on saatu aikaan transformaatiolla Simian Virus 40:llä (SV40), mikä on kuolemattomien solulinjojen kehittämisessä yleinen käytäntö, joka mahdollistaa solujen rajoittamattoman monistumisen yli tavanomaisen, noin 50 populaatiokaksinkertaistumisen ikärajan. SV40:n sisällyttäminen WI-38-soluihin VA13-alalinjan 2RA luomiseksi pidentää solujen elinikää ja tarjoaa kestävämmän mallin pitkäaikaisia kokeita varten. Tämä muunnos säilyttää alkuperäisten diploidisten solujen perusominaisuudet, mutta muuttaa niiden elinkaarta ja kasvumalleja, mikä mahdollistaa jatkuvan kasvun ja helpottaa laajoja tutkimuksia, jotka eivät olleet mahdollisia kantasolulinjan rajallisen eliniän ansiosta. Tämän vuoksi VA13-alalinja on erityisen hyödyllinen meneillään olevilla ja laajoilla tutkimusaloilla, kuten virologian, farmakologian ja geneettisen tutkimuksen aloilla, joilla tarvitaan pitkiä havaintojaksoja.
Organism	Ihminen
Tissue	Keuhkot
Synonyms	WI 38 VA-13 alalinja 2RA, WI 38VA13 alalinja 2RA, WI-38 VA13 sub 2 RA, WI38-VA13 alalinja 2RA, WI38 VA13/2RA, WI38VA13/2RA, VA13 2RA, WI-38 VA13, WI-38 VA13, WI 38 VA 13, WI38-VA13, WI38/VA13, WI38VA13, VA-13, VA13, AG07217, AG7217

Ominaisuudet

Age	3 kuukauden raskaus
Gender	Nainen
Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Epiteelin kaltainen
Cell type	Fibroblastit
Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

WI 38 VA13-alatyyppi 2RA Solut | 300421

Citation	WI 38 VA13 alalinja 2RA (Cytionin luettelonumero 300421)
Biosafety level	2
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_2759

Biomolekyylitiedot

Isoenzymes	G6PD, B
Viruses	Sisältää papovavirusta
Virus susceptibility	Herpes simplex, vesikulaarinen suutulehdus (Indiana), poliovirus 2
Reverse transcriptase	Negatiivinen
Karyotype	Hyperdiploidinen, modaaliluku: 73-78

Käsittely

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L $NaHCO_3$, w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)
Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 %:lla FBS:llä
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Seeding density	1 x 10^4 solua/cm^2

WI 38 VA13-alatyyppi 2RA Solut | 300421

Fluid renewal	1-2 kertaa viikossa
Post-Thaw Recovery	Sulattamisen jälkeen levitä solut 5 x 10^4 solua/cm^2 ja anna solujen toipua jäädyttämisprosessista ja kiinnittyä vähintään 48 tunnin ajan.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Thawing and Culturing Cells

1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana.
2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä.
3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista.
5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen.
6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia.
7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi.
8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.

Incubation Atmosphere	37 °C, 5 $\%_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään

WI 38 VA13-alatyyppi 2RA Solut | 300421

Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.